

สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium spp.*

สาเหตุโรคพืช

Surveying Collecting Identification and Study on Host of Plant

Pathogenic *Sclerotium spp.*

นางสาวสุนิรัตน์ สิมะเต็อ

นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม

นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium sp.* ทั้งหมดจำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ *Ascocenda* จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ *Mokara* จำนวน 6 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ *Vanda* จำนวน 5 ตัวอย่าง กล้วยไม้รองเท้านารี จำนวน 1 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอิม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแอสเตอร์ จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแก้วหน้าม้า จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของบัวสวรรค์ จำนวน 2 ตัวอย่าง และพบเส้นใย และ sclerotia ของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคนต้นพญาสัตบรรณ จำนวน 1 ตัวอย่าง จากการจำแนกชนิดพบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และเก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 61 ไอโซเลท ไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง และทดสอบพืชอาศัย พบว่าเชื้อรา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบ จำนวน 30 ชนิด เป็นโรค

## คำนำ

เชื้อราสกุล *Sclerotium* จัดอยู่ใน Form-Class Hyphomycetes (Hyphales) Form-Order Agonomycetales (Mycelia Sterilia) Form-Family Agonomycetaceae มีหลายชนิด (species) เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืช เช่น *Sclerotium cepivorum* *S. rolfsii* *S. tuliparum* *S. delphinii* และ *S. wakkeri* เป็นต้น (Von,1981)

*S. rolfsii* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน (soilborne) เป็นสาเหตุโรคเน่าระดับดิน (damping off) ของกล้าพืช และโรครากเน่าและโคนเน่าของพืช มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด Farr et. al.(1989) รายงานว่ามีพืชมากกว่า 270 สกุล ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่เป็นพืชอาศัยของ *S. rolfsii* พืชที่อ่อนแอต่อเชื้อรา *S. rolfsii* เช่น มันเทศ (Sweet potato) ฟักทอง (Pumpkin) ข้าวโพด (Corn) ข้าวฟ่าง (Wheat) ถั่วลิสง (Peanut) นาซีซัส (Narcissus) ไอริส (Iris) ลิเลียม (Lilium) บานชื่น (Zinnia) และเบญจมาศ (Chrysanthemum) เป็นต้น Aycock, (1966) รายงานถึงความเสียหายของผลผลิตถั่วลิสงที่ปลูกในพื้นที่ราบทางตอนใต้ของรัฐ North Carolina ประเทศสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1959 ว่ามีความเสียหาย 1-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นมูลค่า 10-20 ล้านดอลลาร์

ลักษณะของรา *S. rolfsii* คือ สร้างเส้นใยสีขาวหรือสีอ่อน มี clamp connection เจริญได้รวดเร็ว และสร้าง sclerotium มีลักษณะเป็นเม็ดกลม สีน้ำตาล ประกอบด้วยเส้นใยอัดตัวกันเป็นชั้นหลายชั้น และเป็นเนื้อเยื่อแบบ pseudoparenchyma ปัจจุบันพบ perfect state จัดอยู่ใน subdivision Basidiomycotina คือ รา *Athelia rolfsii* (Barnett ,1987 ; วิจัย, 2546)

สำหรับในประเทศไทยรา *S. rolfsii* เป็นสาเหตุโรคที่สำคัญของพืชชนิดต่างๆ ได้แก่ โรคกล้าต้นเน่าของถั่วลิสง โคนเน่าของมะเขือเทศ โคนเน่าของพริก เน่าคอดินของฝ้าย เน่าระดับดินของถั่วฝักยาว เน่าแห้งของกล้วยไม้ รากเน่าของเยอบีร่า ลำต้นเน่าของทานตะวัน หัวและรากเน่าของหอม กระเทียม และต้นแห้งของข้าวบาร์เลย์

ในด้านการศึกษากิจการจำแนกชนิด การศึกษาพืชอาศัย และรวบรวมราสกุล *Sclerotium* ยังมีไม่มากนัก และไม่มีการศึกษาตัวอย่างแห้งเข้าสู่พิพิธภัณฑ์ รวมทั้งการเก็บข้อมูลตัวอย่างแห้งยังไม่เป็นระบบสากล ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาเพื่อให้ทราบชนิด (species) ของราสกุล *Sclerotium* สาเหตุโรคพืช พืชอาศัย และแหล่งแพร่ระบาด รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคของพืชชนิดต่างๆที่เกิดจากราสกุล *Sclerotium* เพื่อเก็บรวบรวมในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช ซึ่งข้อมูลจากการศึกษา สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการศึกษาด้านอารักขาพืช และเป็นประโยชน์สำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อศัตรูพืช และการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูพืชในขบวนการนำเข้า ส่งออกพืชผลเกษตร

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. ตัวอย่างโรคพืชที่คาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. จากแหล่งปลูกพืชของประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553
2. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างโรคพืช เช่น กรรไกร คัตเตอร์ ถุงพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กล่องเก็บความเย็น ปากกา กระดาษบันทึกข้อมูล
3. แผงไม้อัดตัวอย่างโรคพืช กระดาษฟางและกระดาษหนังสือพิมพ์
4. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเชื้อรา เช่น เข็มเขี่ย มีดโกน มีดผ่าตัด แผ่นแก้วสไลด์ พร้อมแผ่นปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
5. สารเคมี ได้แก่ Shear's solution และ oil immersion
6. อาหารเลี้ยงเชื้อรา ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA)
7. กล้องจุลทรรศน์ พร้อมกล้องถ่ายภาพ และฟิล์ม
8. เอกสารสำหรับการจัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Sclerotium* spp.

### วิธีการ

#### 1. สํารวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

สํารวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างพืชที่แสดงอาการของโรคซึ่งคาดว่าเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* spp. จากแหล่งปลูกพืชในประเทศไทย ระหว่างพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 โดยเลือกเก็บส่วนของพืชที่แสดงอาการของโรค ห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกรายละเอียด ชื่อพืช สถานที่เก็บ วันที่เก็บ และลักษณะอาการของโรค บรรจุห่อตัวอย่างโรคพืชลงในกล่องเก็บความเย็น เพื่อนำมาจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ

#### 2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

##### 2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

##### แยกเชื้อราโดยตรง

แยกเชื้อราโดยตรงจากชิ้นส่วนพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo หรือ ทำ moist chamber บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน เมื่อเชื้อราสร้าง fruiting body ใช้เข็มเขี่ยส่วนของเชื้อราวางบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

##### แยกเชื้อราโดยวิธี Tissue transplant

นำส่วนของพืชที่เป็นโรคมารัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร ให้คาบต่อส่วนที่เป็นโรคและไม่เป็นโรค แช่ในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ 10 % เป็นเวลา 3-5 นาที ล้างในน้ำนิ่งฆ่า

เชื้อแล้ว 3 ครั้ง ฆ่าให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ศึกษาต่อไป

## 2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดวุ้นอาหารบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อรา นำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบปลูกเชื้อด้วยชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค เมื่อพืชเป็นโรคนำส่วนที่แสดงอาการเป็นโรคมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ตรวจดู เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคอีกครั้ง

## 2.3. การจำแนกชนิดรา *Sclerotium* spp.

### ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา

ศึกษาลักษณะของเชื้อ *Sclerotium* spp. โดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน ตรวจดูลักษณะโคโลนีของเชื้อ จากนั้นเขียนเส้นใย หรือโครงสร้างต่างๆ ลงบนแผ่นกระดาษสไลด์ แล้วหยด Shear's solution ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ตรวจดูลักษณะทางสัณฐานของเส้นใย การสร้าง camp connection และโครงสร้างต่างๆ ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์ ด้วยกำลังขยาย 400 และ 1,000 เท่า วัดขนาดเส้นใย และโครงสร้างอื่นๆ ที่สำคัญ โดยใช้ calibrated micrometer ส่วนการวัดขนาด sclerotium ทำโดยเลี้ยงเชื้อราที่แยกได้บนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน แล้วสุ่มวัดขนาด sclerotium จำนวน 50 เม็ด บันทึกลักษณะทางสัณฐานของเส้นใย ขนาด รูปร่าง สี และลักษณะผิวของเม็ด sclerotium แล้วบันทึกภาพ จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของขนาดเม็ด sclerotium และโครงสร้างของราที่วัดขนาดไว้

### จัดจำแนกชนิดเชื้อรา *Sclerotium* spp. สาเหตุโรคพืช

โดยเปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* spp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp.

## 3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อราที่แยกได้เก็บรักษาไว้ 3 วิธี คือเลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

## 4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ตัวอย่างโรคพืชที่เก็บมาได้ ส่วนหนึ่งนำมาจัดทำตัวอย่างแห้ง โดยตัดส่วนของพืชบริเวณที่แสดงอาการโรค วางบนกระดาษฟางในกล่องพลาสติก พร้อมแนบกระดาษบันทึกข้อมูลพืช วางผึ่งลม

ไม่ให้ถูกแดด จนกระทั่งตัวอย่างพืชแห้ง จึงนำมาเก็บในถุงกระดาษสำหรับเก็บตัวอย่างแห้ง พร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่างตามระบบสากล (Anonymous, 2005) ได้แก่ ชื่อพืช ลักษณะอาการโรค สถานที่เก็บ ชนิดของรสาเหตุโรคพืช วันที่เก็บ ชื่อผู้เก็บ และชื่อผู้จัดจำแนกชนิดรา เป็นต้น แล้วส่งเก็บในพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ เกษตร

## 5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium spp.*

### 5.1 เตรียมพืชทดสอบ

ปลูกพืชทดสอบชนิดต่างๆในกระถาง ในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง รดน้ำตามปกติ พืชที่ใช้ทดสอบ จำนวน 30 ชนิด ได้แก่ พืชผักและสมุนไพร 12 ชนิด คือ มะเขือเทศ พริก กระเจี๊ยบเขียว แตงกวา โหระพา คื่นช่าย กวางตุ้ง ผักบุ้ง มะเขือยาว ผักชีไทย กระชายดำ และขิง ไม้ดอกและไม้ประดับ 12 ชนิด ได้แก่ กล้วยไม้แวนด้า กล้วยไม้แอสโคเซนด้า กล้วยไม้มอคคาร่า กล้วยไม้ช้าง กล้วยไม้รองเท้านารี กล้วยไม้ดิน บานชื่น ดาวเรือง แอสเตอร์ ทานตะวัน กวนอิม และเศรษฐีเรือนนอก และพืชไร่ 6 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วลิสง และข้าวโพด

### 5.2 เตรียมเชื้อรา *S. rolfsii*

นำเชื้อรา *S. rolfsii* มาเลี้ยงขยายบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

### 5.3 ทดสอบพืชอาศัย

ตัดอาหารร่วนบริเวณส่วนปลายเส้นใยของเชื้อราที่ได้จากข้อ 5.2 ด้วย cork boror ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำไปปลูกเชื้อบนพืชทดสอบ โดยวางชิ้นอาหารร่วนที่มีเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* จำนวน 2 ชิ้นบนดินบริเวณโคนต้นพืชทดสอบ สำหรับกรรมวิธีเปรียบเทียบใช้ชิ้นอาหารร่วน PDA ที่ปราศจากเชื้อสาเหตุโรค และบันทึกผลการเกิดโรค

## เวลาและสถานที่

เวลา เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกพืชของ

เกษตรกร

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. สำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคพืช

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกพืช ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด เชียงราย เชียงใหม่ ลำปาง พะเยา ลำพูน แม่ฮ่องสอน ตาก พิจิตร อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ อุบลราชธานี หนองคาย ขอนแก่น นครราชสีมา เลย ลพบุรี สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี กรุงเทพมหานคร นนทบุรี นครปฐม กาญจนบุรี ราชบุรี เพชรบุรี สมุทรสาคร จันทบุรี สงขลา พัทลุง และสตูล ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมดจำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของกระชายดำ จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วเหลือง จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง จำนวน 9 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของข้าวโพด จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ *Ascocenda* จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ *Mokara* จำนวน 6 ตัวอย่าง กล้วยไม้ช้าง จำนวน 2 ตัวอย่าง กล้วยไม้ *Vanda* จำนวน 5 ตัวอย่าง กล้วยไม้รองเท้านารี จำนวน 1 ตัวอย่าง และ กล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก จำนวน 5 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคลำต้นเน่าของกวนอิม จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก จำนวน 1 ตัวอย่าง และโรคโคนเน่าของพลับพลึง จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแอสเตอร์ จำนวน 1 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของแก้วหน้าม้า จำนวน 2 ตัวอย่าง โรคโคนเน่าของบัวสวรรค์ จำนวน 2 ตัวอย่าง และพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาวถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคนต้นพญาสัตบรรณ จำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

## 2. ศึกษา และจำแนกชนิดของรา *Sclerotium* spp.

### 2.1 แยกเชื้อรา และเก็บเชื้อบริสุทธิ์

แยกเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ ได้ทั้งหมด 61 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาต่อไป

### 2.2 พิสูจน์โรคตามวิธีการ Koch's postulate

นำเชื้อรา *Sclerotium* sp.บริสุทธิ์ที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน แล้วนำไปปลูกเชื้อบนพืชชนิดเดิม พบว่าพืชแสดงอาการโรค และเมื่อนำส่วนของพืชที่เป็นโรคมานำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์เพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุตามวิธีการ Koch's postulate พบว่าเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้ง 61 ไอโซเลท เป็นสาเหตุโรคพืช

### 2.3 จำแนกชนิดรา *Sclerotium* spp.

นำเชื้อรา *Sclerotium* sp.ที่รวบรวมได้ มาศึกษาลักษณะทางสัณฐาน โดยศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA และ ลักษณะ ขนาด สี ของเส้นใย สปอร์ และ fruiting body ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์ ได้ผลดังนี้

โคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA อายุ 1 วัน มีสีขาว การเจริญสม่ำเสมอ เส้นใยสีขาวฟู มีขนาดกว้าง 2-5 ไมครอน ไม่พบการสร้างสปอร์ แต่จะเริ่มสร้าง sclerotium เมื่อเส้นใยเจริญเต็ม

ผิวหน้าอาหาร และจะสร้างหนาแน่น ตั้งแต่บริเวณขอบโคโลนีเข้ามา 1 เซนติเมตร ส่วนบริเวณกลางโคโลนีสร้างเพียงเล็กน้อย เมื่อรามีอายุ 15 วัน เม็ด sclerotium มีขนาด 0.8-1.0 มิลลิเมตร เส้นใยของเชื้อรามีผนังบาง ไม่มีสี มีผนังกันตามขวาง มีการสร้าง clamp connection

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของรา *Sclerotium* sp. ที่รวบรวมได้ ทั้ง 61 ไอโซเลท เปรียบเทียบลักษณะของรา *Sclerotium* sp. ที่ศึกษากับคู่มือการจัดจำแนกรา *Sclerotium* spp. จำแนกชนิดได้เป็นเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. (ตารางที่ 1)

### 3. เก็บรักษาสายพันธุ์เชื้อรา

เชื้อรา *S. rolfsii* ที่แยกได้ทั้ง 61 ไอโซเลท เก็บเข้าศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของกลุ่มวิจัยโรคพืช โดยเก็บไว้ 3 วิธี คือ เลี้ยงบนอาหาร PDA Slant ในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใส่ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในหลอดแก้ว เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และอีกส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างแห้งโรคพืชไว้ในพิพิธภัณฑ์โรคพืช

### 4. จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืช

ได้จัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชที่เกิดจากรา *S. rolfsii* ส่งเข้าพิพิธภัณฑ์ตัวอย่างแห้งโรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง

### 5. ศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium* spp.

จากการทดสอบพืชอาศัย จำนวน 30 ชนิด คือ พืชกลุ่มผักและสมุนไพร 12 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ พริก กระจับปี่เขียว แมงลัก โหระพา คื่นช่าย กวางตุ้ง ผักบุ้ง มะเขือยาว ผักชีไทย กระชายดำ และขิง กลุ่มไม้ดอกและไม้ประดับ 12 ชนิด ได้แก่ กลัวยไม้แวนด้า กลัวยไม้แอสโคเซนด้า กลัวยไม้มอคคาร่า กลัวยไม้ช้าง กลัวยไม้รองเท้านารี กลัวยไม้ดิน บานชื่น ดาวเรือง แอสเตอร์ ทานตะวัน กวนอิม และเศรษฐีเรือนนอก และกลุ่มพืชไร่ 6 ชนิด ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วเหลือง ถั่วดำ ถั่วเขียว ถั่วลิสง และข้าวโพด พบว่ารา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบทั้งหมดเป็นโรค

### สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืช ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 จากแปลงปลูกของเกษตรกร ในพื้นที่ 30 จังหวัด ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมด จำนวน 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด จำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา พบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และได้เก็บเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 61 ไอโซเลท ไว้ในศูนย์รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของกลุ่มวิจัยโรคพืช รวมทั้งจัดทำตัวอย่างแห้งโรคพืชพร้อมลงรายละเอียดข้อมูลตัวอย่าง เก็บในพิพิธภัณฑ์โรคพืช จำนวน 61 ตัวอย่าง และจากการทดสอบพืชอาศัย พบว่าเชื้อรา *S. rolfsii* ทำให้พืชทดสอบ จำนวน 30 ชนิด เป็นโรค

## เอกสารอ้างอิง

- วิจัย รักรวิทยาศาสตร์. 2546. รักรวิทยาเบื้องต้น. จามจุรี โปรดักส์, กรุงเทพฯ. 351 หน้า
- Aycock, R. 1966. Stem Rot and Other Diseases Caused by *Sclerotium rolfsii*. Tech. Bul. No. 174. North Carolina Agr. Exp. Sta. 202 pp.
- Barnett, H.L. and B. B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3<sup>rd</sup> Ed., The American Phytopathological Society, Minnesota. 218 pp.
- Farr, D.F., G.F. Bills, G.P. Chamuris, and A.Y. Rossman. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United States. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Von ARX, J.A.. 1981. The Gennera of Fungi Sporulating in Pure Culture. 3<sup>rd</sup> Revised Ed., J. cramer, Kommandit Gesellschaft, Germany. 422 pp.

## ภาคผนวก

**ตารางที่ 1** ชนิดพืช เชื้อสาเหตุ ลักษณะอาการ แหล่งที่พบ และจำนวนตัวอย่างโรคพืชที่ได้จากการสำรวจ รวบรวม และเก็บตัวอย่างโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium sp.* ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
1	พริก	<i>Sclerotium rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ศวส.พิจิตร อ.โพธิ์ประทับช้าง จ.พิจิตร จ.เชียงใหม่ อ.เมือง จ.ขอนแก่น อ.ควนขนุน จ.พัทลุง อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา จ.กาญจนบุรี	3    1 2 1 1  1



## ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
2	มะเขือเทศ	<i>S. rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบ เส้นใยสีขาว และเม็ด sclerotia ของเชื้อรา	จ.พระนครศรีอยุธยา	1
				อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	1
				อ.ศรีเชียงใหม่	2
				จ.หนองคาย อ.มวกเหล็ก จ.สระบุรี	1
3	กระชายดำ	<i>S. rolfsii</i>	โคนเน่า ที่โคนต้นพบเส้น ใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.มะนัง จ.สตูล	2
4	ถั่วเหลือง	<i>S. rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว โคนต้นพบเส้น ใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.ขอนแก่น	2
5	ถั่วลิสง	<i>S. rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว ที่ฝัก โคนต้น และราก พบเส้นใยสี ขาว และ sclerotiaของ เชื้อรา	ต.ทุ่งทอง อ.ท่าม่วง	2
				จ.กาญจนบุรี	2
				อ.ศรีเทพ จ.เพชรบูรณ์	2
				อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ อ.บางเลน จ.นครปฐม	2 3
6	ข้าวโพด	<i>S. rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว โคนต้น และ ราก พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อ รา	อ. แม่สอด จ.ตาก	1
7	กล้วยไม้ Ascocenda	<i>S. rolfsii</i>	ใบเหลือง ร่วง โคนต้น เน่า และรากแห้ง พบ เส้นใยหยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สี ขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของ เชื้อราที่ใบลำต้นและราก	เขตบางแค กรุงเทพมหานคร	2

## ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
8	กล้วยไม้ Mokara	<i>S. rolfsii</i>	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสี ขาว และ sclerotia ขนาด เล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้ม	อ.กระทู้มแบน	3
				จ.สมุทรสาคร อ. นครชัยศรี จ. นครปฐม	3
9	กล้วยไม้ ช้าง	<i>S. rolfsii</i>	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใย หยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของ เชื้อรา ที่ใบ ลำต้น และราก	อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม	2
10	กล้วยไม้ Vanda	<i>S. rolfsii</i>	ใบเหลือง ร่วง โคนต้นเน่า และรากแห้ง พบเส้นใย หยาบสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อรา ที่ ใบ ลำต้น และราก	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	1
				อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี	2
				อ.ปากเกร็ด จ.นนทบุรี	2
11	กล้วยไม้ รองเท้านารี		ใบเหลือง และโคนต้นเน่า พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อราบน แผล	อ.แม่สอด จ.ตาก	1
12	กล้วยไม้ดิน	<i>S. rolfsii</i>	ใบ โคนต้น และรากแห้ง บริเวณโคนต้น โคนใบ และรากพบเส้นใยหยาบสี ขาว และ sclerotia ขนาด เล็ก สีขาว ถึงสีน้ำตาล เข้มของเชื้อรา	อ. กระทู้ม จ.สมุทรสาคร	3
				อ.ขลุง จ. จันทบุรี	2
13	เฟิร์นฮาวาย	<i>S. rolfsii</i>	เหี่ยว ต้นแห้ง ที่โคนต้น และรากพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	2

## ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	พืช	เชื้อสาเหตุ	ลักษณะอาการ	แหล่งที่พบ	จำนวน
14	ทานตะวัน	<i>S. rolfsii</i>	ต้นเหี่ยว ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เทคโนโลยีราชมงคล จันทบุรี	1
15	กวนอิมเขียว	<i>S. rolfsii</i>	ใบและกาบใบแห้ง พบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	ต.โป่งผา อ.แม่สาย จ.เชียงราย.	1
16	เศรษฐีเรือนนอก	<i>S. rolfsii</i>	โคนต้นเน่า ใบเหลืองแห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	อ.เมือง จ.นนทบุรี	1
17	พลับพลึง	<i>S. rolfsii</i>	โคนต้นเน่า ใบเหลืองแห้ง ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	จ.อุบลราชธานี	1
18	แอสเตอร์		ต้นเหี่ยว พบเส้นใยของเชื้อราสีขาวที่บริเวณราก และโคนต้น	อ.ฝาง จ.เชียงใหม่	1
19	แก้วหน้าม้า		ใบเหลือง ร่วง และโคนต้นเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เขตบึงกุ่ม กทม.	2
20	บัวสวรรค์		ใบเหลือง ร่วง และโคนต้นเน่า ที่โคนต้นพบเส้นใยสีขาว และ sclerotia ของเชื้อรา	เขตบึงกุ่ม กทม.	2
21	พญาสัตบรรณ		พบเส้นใยของเชื้อราสีขาว และ sclerotia ขนาดเล็กสีขาว ถึงสีน้ำตาลเข้มของเชื้อราที่ใบแห้ง บริเวณโคน	เขตจตุจักร กทม.	1